

Márcia Nelcida Issufo Abdala

Propriedades antioxidantes de constituintes fenólicos de macroalgas marinhas:
aplicações farmacoterapêuticas

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2016

Propriedades antioxidantes de constituintes fenólicos de macroalgas marinhas: aplicações
farmacoterapêuticas

Propriedades antioxidantes de constituintes fenólicos de macroalgas marinhas: aplicações
farmacoterapêuticas

Márcia Nelcida Issufo Abdala

Propriedades antioxidantes de constituintes fenólicos de macroalgas marinhas:
aplicações farmacoterapêuticas

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2016

Propriedades antioxidantes de constituintes fenólicos de macroalgas marinhas: aplicações
farmacoterapêuticas

Márcia Nelcida Issufo Abdala

Propriedades antioxidantes de constituintes fenólicos de macroalgas marinhas:
aplicações farmacoterapêuticas.

Atesto a originalidade do trabalho:

(Márcia Nelcida Issufo Abdala)

Trabalho apresentado à Universidade
Fernando Pessoa como parte dos requisitos
para obtenção do grau de Mestre em
Ciências Farmacêuticas.

Porto, 2016

Resumo

Desde tempos remotos que as macroalgas marinhas são utilizadas por comunidades humanas, nomeadamente as orientais, como parte importante da sua dieta alimentar. A composição química das diferentes macroalgas marinhas (algas castanhas – *Phaeophyta*, algas vermelhas – *Rhodophyta* e algas verdes – *Chlorophyta*) confirma que além de terem um valor nutricional satisfatório podem ser uma fonte muito interessante de compostos bioativos como, por exemplo, os compostos fenólicos.

Quimicamente os compostos fenólicos caracterizam-se por apresentarem um ou mais grupos hidroxilo ligados a um anel aromático. Estes compostos englobam desde moléculas simples até moléculas poliméricas de grandes dimensões. A maioria dos compostos fenólicos apresenta atividade antioxidante.

O interesse pelo estudo de metabolitos secundários das macroalgas com propriedades antioxidantes surgiu, numa primeira fase, como uma tentativa de encontrar substitutos para os antioxidantes sintéticos usados como aditivos alimentares (nomeadamente o BHA e o BHT) que demonstravam possuir efeitos carcinogénicos. No entanto, rapidamente a comunidade científica reconheceu que a aplicação de novos compostos fenólicos naturais é muito mais vasta.

Sabe-se hoje que é crucial para a promoção da saúde de um indivíduo que se verifique a manutenção do equilíbrio entre a produção de radicais livres e as respetivas defesas antioxidantes. Quando esse equilíbrio se altera e ocorre uma acumulação de radicais livres no organismo, este entra em stress oxidativo, situação que pode conduzir a danos dos lípidos celulares, proteínas e ácidos nucleicos, o que favorece o aparecimento de diversas doenças e acelera o envelhecimento celular.

Assim, atualmente existe um crescente interesse por parte da indústria farmacêutica e da indústria da cosmética no estudo dos compostos fenólicos isolados de macroalgas. De entre estes, destacam-se os florotaninos, que para além das propriedades antioxidantes têm demonstrado possuir outras atividades farmacológicas importantes, tais como atividade antibacteriana, anti-viral, antineoplásica, anti-hipertensora e anti-diabética.

Este trabalho consiste numa revisão bibliográfica sobre os diversos compostos fenólicos com atividade antioxidante isolados de macroalgas marinhas e que demonstraram vantagens na sua incorporação, quer em formulações cosméticas, quer em medicamentos, debatendo as suas ações farmacológicas, mecanismos de ação e possíveis aplicações futuras.

Palavras-chave:

Radicais livres; propriedades antioxidantes; compostos fenólicos; florotaninos; algas marinhas; macroalgas; farmacologia marinha.

Abstract

Seaweeds are used by human communities, especially the eastern, since ancient times as an important part of their diet. The chemical composition of different seaweeds (brown algae - *Phaeophyta*, red algae - *Rhodophyta* and green algae - *Chlorophyta*) proves that, besides having a satisfactory nutritional value, they can be a very interesting source of bioactive compounds such as phenolic compounds.

Chemically, the phenolic compounds are characterized by presenting one or more hydroxyl groups attached to an aromatic ring. These compounds range from simple molecules to large polymeric molecules. Most phenolic compounds present antioxidant activity.

The interest in the study of secondary metabolites from macroalgae with antioxidant properties emerged in a first stage as an attempt to find suitable replacements for synthetic antioxidants used as food additives that showed carcinogenic effects (such as BHA and BHT). However, soon the scientific community recognized that the application of new natural phenolic compounds is much wider.

Nowadays it is accepted that it is crucial for the promotion of the human health to maintain the balance between the production of free radicals and the antioxidant defenses. When this balance is disturbed leading to an accumulation of free radicals in the body, oxidative stress occurs. That can result in damage of the cell lipids, proteins and nucleic acids, which favors the appearance of various diseases and accelerates cellular aging.

Thus, there is currently a growing interest by pharmaceutical and cosmetic industries in the study of phenolic compounds isolated from macroalgae. Some of these, namely phlorotannins, stand out not only by their antioxidant properties, but also by other valuable pharmacological activities such as antibacterial, antiviral, antineoplastic, anti-hypertensive and anti-diabetic properties.

This work consists of a concise review on the various phenolic compounds with antioxidant activity isolated from marine macroalgae. The advantages of their presence in cosmetic formulations and/or in medicines are pointed out. Their mechanisms of action, pharmacological properties and possible future applications are also discussed.

Keywords:

Free radicals; antioxidant properties; phenolic compounds; phlorotannins; seaweed; macroalgae; marine pharmacology.

Agradecimentos

Durante a minha caminhada em Portugal quero agradecer às pessoas que durante o meu percurso académico foram imprescindíveis para a realização deste sonho, que um dia se tornou real.

Agradeço a Deus, primeiramente pela vida, saúde, força e inteligência que me concedeu a cada dia e a cada decorrer deste estudo.

À minha Mãe, Mariana Manjate a quem dedico esta tese, pelo amor incondicional, por ser minha amiga, conselheira, pelo apoio emocional, por ensinar-me a lutar sempre pelos meus objetivos, ideais, e por sempre acreditar em mim, mesmo quando eu achei que não seria capaz. Obrigada Mãe, por ser essa Mãe sempre presente em minha vida.

À minha irmã Dirce e ao meu irmão Nelson, por todos os gestos de carinho, amizade e apoio.

À família Ferreira em especial a minha Irmã Anifa por todo o carinho e suporte dado neste anos todos e longe de casa, ao meu sobrinho Paulo e ao meu cunhado Fernando, pela paciência e carinho depositado em mim.

A todos os docentes e funcionários da Universidade Fernando Pessoa e aos meus colegas em especial à Ana Patrícia Araújo, obrigada pelo carinho e amizade que vou levar para a vida toda. Aos docentes em especial ao Professor Doutor João Carlos, pela atenção e tempo disponibilizado em mim para tirar sempre dúvidas, à Professora Doutora Rita Oliveira, à Professora Doutora Carla Lopes, pelo carinho, e atenção sempre em mim depositado.

Quero deixar um agradecimento muito especial à minha orientadora, à Professora Doutora Rita Catarino, pela enorme disponibilidade, todo o apoio, carinho, esforço e dedicação prestada ao longo de todo este meu processo académico, paciência e por ter-me orientado neste trabalho, de forma a finalizar com sucesso. E à minha coorientadora Professora Doutora Renata Souto, pela disponibilidade prestada, pela ajuda e dedicação ao longo do período de elaboração do trabalho.

KANIMANBO, KANIMANBO “Obrigada, Obrigada”

Índice

I. Introdução.....	1
1. Radicais livres e espécies reativas de oxigénio.....	1
2. Antioxidantes	3
II. Macroalgas marinhas	7
1. Considerações gerais.....	7
2. Compostos fenólicos com atividade antioxidante.....	12
3. Potenciais aplicações dos compostos fenólicos derivados de macroalgas	16
3.1. Nutrição	16
3.2. Cosmética	17
3.3. Desenvolvimento de Medicamentos	20
i. Atividade antibacteriana.....	22
ii. Atividade Anti-HIV.....	23
iii. Atividade anti-hipertensora.....	26
iv. Atividade antialérgica.....	27
v. Atividade antineoplásica	28
vi. Atividade antidiabética.....	32
III. Conclusões.....	36
IV. Bibliografia.....	38

Índice de figuras

Figura 1 – Principais causas e consequências da ação de radicais livres (Adaptada de Ferreira et al., 2007).	3
Figura 3 – A - Alga <i>Cladostephus spongiosus</i> ; B - Alga <i>Laminaria saccharina</i> (<i>Saccharina latíssima</i>); C - Alga <i>Ecklonia cava</i> (adaptado de http://www.seaweed.ie).10	
Figura 4 – A - Alga <i>Chondrus crispus</i> ; B - Alga <i>Mastocarpus stellatus</i> ; C - Alga <i>Palmaria palmata</i> (adaptado de http://www.seaweed.ie).	10
Figura 5 – Estrutura química de floroglucinol (adaptado de Thomas e Kim, 2011).	18
Figura 6 – Estruturas químicas de florotaninos derivados de macroalgas castanhas. (A) - ecol; (B) – florofucofuroecol; (C) – 2-floroecol; (D) – 7-floroecol; (E) – fucofuroecol A; (F) – florofucofuroecol A; (G) – diecol; (H) – 8,8'-biecol; I- 6,6'-biecol (Adaptado de Thomas e Kim, 2011).	20
Figura 7 - Estrutura química do lanosol (Adaptado de http://www.chemspider.com)... 21	
Figura 8 – Estrutura química de alguns ácidos fenólicos predominantes em macroalgas verdes. (A) Ácido hidroxibenzóico; (B) Ácido siríngico e (C) Ácido cumárico (Adaptado de http://www.sigmaaldrich.com/united-kingdom.html).	22
Figura 9 – Estrutura química de compostos fenólicos diterpênicos isolados de algas vermelhas. (A) – bromoficolide A; (B) – bromoficolide B e (C) – composto não halogenado (Adaptado de Gamal, 2010).	23
Figura 10 – Estrutura química de 8,4'' diecol (Adaptado de Karadeniz, et al., 2014)... 25	
Figura 11 – Estrutura química de compostos fenólicos isolados de macroalgas vermelhas. (A) – peissonol A; (B) – peissonol B (Adaptado de Gamal, 2010).	25
Figura 12 – Estrutura química de fucodifloroetol G (Adaptado de Vo et al., 2012).	29
Figura 13 – Estrutura química de meroterpenoides. (A) – sargol; (B) – sargol I; (C) – sargol II (Adaptado de Gamal, 2010).	30
Figura 14 – Estrutura química de isorawsonol (Adaptado de Gamal, 2010).	30

Figura 15 – Estrutura química de compostos isolados de macroalgas verdes. (A) – cimobarbatol; (B) – 4-isocimobarbatol (Adaptado de Gamal, 2010).....	31
Figura 16 – Estrutura química de sesquiterpenos (Adaptado de Gamal, 2010).	31
Figura 17 – Estrutura química do terpenoide C (Adaptado de Gamal, 2010).	32
Figura 18 – Estrutura química de: (A) – hidroxiisoavrainvileol; (B) e (C) - derivadas do ácido vanílico (Adaptado de Gamal, 2010).	34

Propriedades antioxidantes de constituintes fenólicos de macroalgas marinhas: aplicações
farmacoterapêuticas

Índice de tabelas

Tabela 1 – Compostos fenólicos em plantas (Ângelo e Jorge, 2007).....	6
Tabela 2 – Principais grupos de compostos antioxidantes em macroalgas e suas propriedades biológicas	15

Lista de siglas e abreviaturas

BHA – Hidroxianisol butilado, do inglês *Butylated hydroxyanisole*

BHT – Hidroxitolueno butilado, do inglês *Butylated hydroxytoluene*

CAT – Catalase

CD - Células diferenciadas, do inglês *Cluster of Differentiation*

DCV – Doenças cardiovasculares

DM - *diabetes mellitus*

DNA - Ácido desoxirribonucleico, do inglês *deoxyribonucleic acid*

EMA – Agência Europeia do Medicamento, do inglês *European Medicines Agency*

EU - União Europeia, do inglês *European Union*

FDA - Administração Federal de Alimentos e Medicamentos, do inglês *Food and Drug Administration*

GPx - Glutathione peroxidase

GSH - Glutathione

GPH-R – Glutathione reductase

GTP - Guanosina trifosfato, do inglês *guanosine triphosphate*

HIV - Vírus da imunodeficiência humana (HIV, do inglês *human immunodeficiency virus*)

LDL - lipoproteínas de baixa densidade, do inglês *Low Density Lipoprotein*)

MMP-1 - Metaloproteinase de matriz -1, do inglês, *matrix metalloproteinase-1*

OM3-FAs - Ácidos Gordos de Omega 3, do inglês *Omega3 fatty acids*

OMS – Organização Mundial de Saúde

PTP1B - Inibidor da proteína fosfatase de tirosina 1B, do inglês *protein tyrosine phosphatase 1B*

Propriedades antioxidantes de constituintes fenólicos de macroalgas marinhas: aplicações farmacoterapêuticas

RNS - Espécies reativas de azoto, do inglês *Reactive Nitrogen Species*

ROS - Espécies reativas de oxigénio, do inglês *Reactive Oxygen Species*

SOD - Superóxido dismutase

I. Introdução

1. Radicais livres e espécies reativas de oxigénio

Um radical livre pode ser definido como uma espécie química capaz de existência independente e que apresenta um ou mais eletrões desemparelhados (Halliwell, 2006). Existem diversos tipos de radicais livres nos organismos vivos, nomeadamente no corpo humano, dos quais se destacam as espécies reativas de oxigénio (ROS, do inglês, *reactive oxygen species*). Nestes radicais, os eletrões desemparelhados encontram-se localizados nos átomos de oxigénio. Os ROS são especialmente reativos e podem ser produzidos endogenamente (em reações metabólicas) ou resultarem da ação de fatores exógenos (tais como exposição a radiações ultravioleta, ingestão e/ou inalação de substâncias químicas, nomeadamente através da alimentação e do tabagismo). Estes radicais podem provocar alterações no corpo humano, por exemplo através da oxidação de várias biomoléculas como o ácido desoxirribonucleico (DNA, do inglês *deoxyribonucleic acid*), vitaminas, proteínas e lípidos, podendo resultar em danos teciduais e inclusive na morte celular (Halliwell, 2006).

As ROS estão divididas em dois grupos: (1) as espécies químicas radicalares, tais como o anião radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o radical hidropéroxido (HOO^{\cdot}), o radical hidroxilo (OH^{\cdot}), o radical peróxido (ROO^{\cdot}), o radical alcóxido (RO^{\cdot}) e o oxigénio singlete (1O_2), e (2) as espécies químicas não radicalares, tais como o ácido hipocloroso ($HClO$) e o peróxido de hidrogénio (H_2O_2). Estas últimas são moléculas que isoladamente são praticamente inócuas, mas que no organismo podem reagir com metais de transição gerando espécies químicas radicalares tais como o radical OH^{\cdot} (Barreiros *et al.*, 2006).

Nos organismos aeróbios, os radicais livres são constantemente produzidos durante o funcionamento normal da célula, maioritariamente sob a forma de ROS. O oxigénio aparece como um subproduto natural da produção de energia durante o processo de fosforilação oxidativa que decorre na mitocôndria. Para além das ROS, os organismos

aeróbios também produzem espécies reativas de azoto (RNS, do inglês, *reactive nitrogen species*) tais como o óxido nítrico (NO[•]) (Balboa *et al.*, 2013).

De facto, além das ROS, sem dúvida uma classe de espécies reativas muito importante, existem igualmente radicais livres em que o ou os eletrões desemparelhados se encontram localizados em outros átomos que não o oxigénio, como é o caso das RNS (Rahman, 2007; Barreiros *et al.*, 2006).

Normalmente, os níveis de radicais livres em organismos vivos são controlados por um conjunto complexo de defesas antioxidantes, o que minimiza o dano oxidativo em biomoléculas importantes. Quando os níveis de ROS excede o limite dos mecanismos de defesa antioxidantes, ocorre desequilíbrio, levando à condição de stress oxidativo (Machu *et al.*, 2015).

O stress oxidativo pode ter causas naturais, como o que ocorre em situações de exercício físico extremo ou em processos de inflamação; mas pode também ter causas não naturais como a presença de xenobióticos no organismo ou em situações relacionadas com várias patologias (Figura 1) (Ferreira *et al.*, 2007).

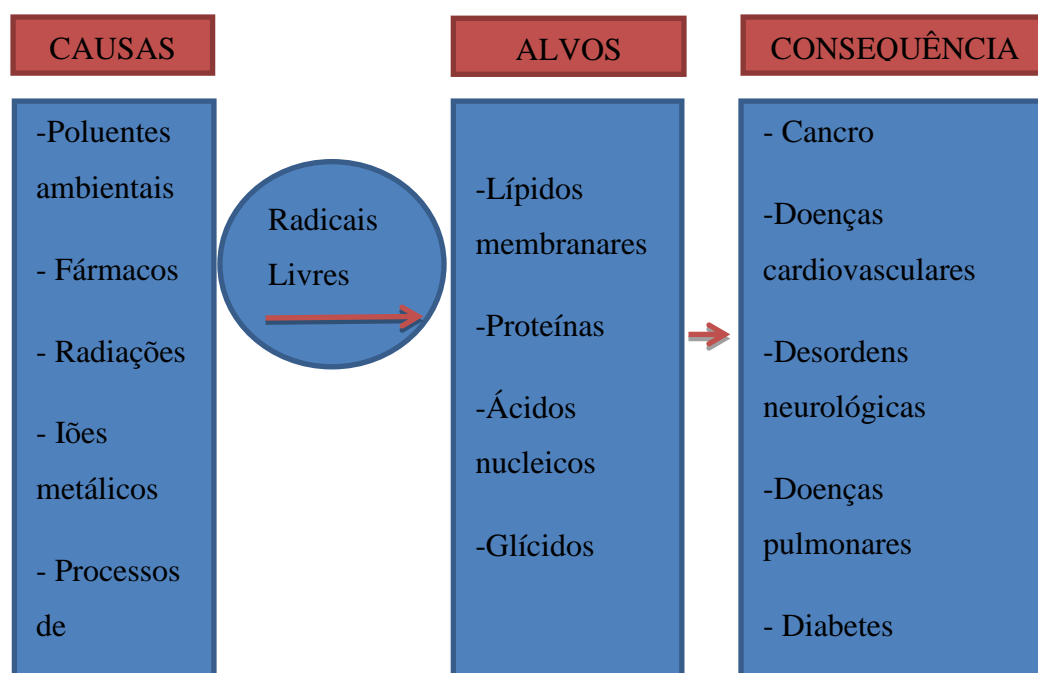


Figura 1 – Principais causas e consequências da ação de radicais livres (Adaptada de Ferreira *et al.*, 2007).

Apesar de não ser a sua principal causa, o stress oxidativo pode ser associado com inúmeras patologias, tais como doenças cardiovasculares, cancro, aterosclerose, hipertensão, isquemia, diabetes *mellitus*, hiperoxalúria, doenças neuro-degenerativas (tais como a doença de Alzheimer e a de Parkinson) e artrite reumatóide, e também com o envelhecimento (Machu *et al.*, 2015).

2. Antioxidantes

Em termos simples, um antioxidante pode ser considerado como um agente que mesmo presente em baixas concentrações atrasa, impede ou elimina os danos oxidativos a partir de uma molécula-alvo (Halliwell, 2007). Dividem-se em antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (também chamados de antioxidantes de baixo peso molecular). Como

exemplos de antioxidantes enzimáticos, pode-se referir a glutathione peroxidase (GPx), a catalase (CAT), a superóxido dismutase (SOD) e a glutathione reductase (GPR). A SOD catalisa a conversão do anião superóxido a peróxido de hidrogénio, o qual é de seguida transformado em oxigénio e água por ação da CAT nos lisossomas, ou em água pela GPx nas mitocôndrias (Ferreira *et al.*, 2007).

Uma outra enzima importante é a GSH-R que possui a capacidade de regenerar a glutathione (GSH), um tripéptido usado pela catalase como dador de hidrogénio necessário para a redução do peróxido de hidrogénio em água (Ferreira *et al.*, 2007).

Os antioxidantes não enzimáticos (ou de baixo peso molecular), sintetizados *in vivo* ou obtidos exogenamente, também contribuem para o equilíbrio redox celular. Estes compostos previnem igualmente danos oxidativos por inibição direta ou indireta das ROS (Barreiros *et al.*, 2006).

De entre as substâncias endógenas pode-se destacar algumas hormonas tais como os estrogénios, nomeadamente o estradiol e a melatonina que apresentam atividade antioxidante semelhante à vitamina E. A atividade antioxidante do estradiol é atribuída, provavelmente, à sua porção fenólica (Tan *et al.*, 2002). Para além das hormonas, também certos peptídeos de histidina, proteínas ligadas ao ferro (tais como a transferrina e a ferritina) e a GSH, atuam como bons antioxidantes endógenos (Barreiros *et al.*, 2006).

Dentro das substâncias exógenas, que normalmente são obtidas pela dieta alimentar, destacam-se o ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), carotenoides (como o β -caroteno) e os compostos fenólicos, tais como os flavonoides (Barreiros *et al.*, 2006).

O ácido ascórbico é vulgarmente encontrado no organismo na forma de ascorbato. Dada a sua elevada solubilidade em água, localiza-se preferencialmente nos compartimentos aquosos dos tecidos. Atua como redutor dos metais de transição (particularmente Fe^{3+} e Cu^{2+}) e tem igualmente a capacidade de reagir com as ROS convertendo-as em espécies químicas inócuas (Barreiros *et al.*, 2006). Para além disso pode atuar de forma sinérgica com a vitamina E. A vitamina C é igualmente um cofator de diversas enzimas, sendo essencial na síntese de colagénio (Guirotini *et al.*, 2007).

A vitamina E é uma vitamina lipossolúvel que pode ser encontrada em 8 formas diferentes, 4 tocoferóis e 4 tocotrienóis. De entre estas formas o α -tocoferol é a forma mais ativa nos humanos (Ferreira *et al.*, 2007). Dada a sua lipofilia concentra-se ao nível das membranas, sendo altamente eficaz na prevenção da peroxidação lipídica. É muito utilizada na prevenção de doenças e/ou fotoenvelhecimento da pele, podendo ser veiculada em suplementos orais ou em produtos de uso tópico. As ROS reagem com a vitamina E, formando um radical fenólico pouco reativo (vit. E \bullet). Por sua vez, a vitamina C tem a capacidade de reagir com este radical fenólico, regenerando a vitamina E à sua forma inicial (Ferreira *et al.*, 2007).

Os carotenoides possuem a capacidade de desativar o oxigénio singlete ($^1\text{O}_2$). Outro dado importante no que respeita à atividade dos carotenoides relaciona-se com a sua polaridade: os que apresentam grupos polares nos anéis aromáticos são efetivos na prevenção da lipoperoxidação (estão mais em contato com a fase aquosa, reagindo com os radicais que penetram na membrana); os apolares, como o licopeno e o β -caroteno, são mais eficientes no interior da membrana sendo mais regeneradores do que preventivos e atuam por sinergismo com a vitamina C e E (Tapiero *et al.* 2004).

Quanto aos compostos fenólicos, quimicamente definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, são normalmente obtidos através da dieta. Possuem uma estrutura muito variável, e por isso,

são multifuncionais. Existem mais de cinco mil compostos fenólicos identificados, destacando-se, pelas suas propriedades biológicas, os flavonoides, ácidos fenólicos, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (Ângelo e Jorge, 2007; Shin *et al.*, 2014). Na Tabela I encontram-se listadas as principais classes de compostos fenólicos presentes nas plantas.

Tabela 1 – Compostos fenólicos em plantas (Ângelo e Jorge, 2007)

Classe	Estrutura
Fenólicos simples, benzoquinonas	C_6
Ácidos hidroxibenzóicos	C_6-C_1
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C_6-C_2
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	C_6-C_3
Nafitoquinonas	C_6-C_4
Xantonas	$C_6-C_1-C_6$
Estilbenos, antoquinonas	$C_6-C_2-C_6$
Flavonóides, isoflavonóides	$C_6-C_3-C_6$
Lignanas, neolignanas	$(C_6-C_3)_2$
Biflavonóides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
Taninos condensados	$(C_6-C_3-C_6)_n$

As classes de compostos fenólicos presentes nas plantas, assim como respetivas quantidades, dependem de diversos fatores, variando não só com o filo/ordem/família/espécie, como também com as características ambientais do meio em que a planta se desenvolve (Degáspari e Waszcznskyj, 2004). O grau de luminosidade a que a planta está exposta, principalmente a quantidade de radiação UVB é dos fatores mais importantes (por exemplo, a formação de flavonoides é acelerada pela luz) (Degáspari e Waszcznskyj, 2004).

O estudo dos compostos fenólicos presentes nas macroalgas foi durante muitos anos negligenciado devido à falta de tecnologia que dificultava a exploração dos mares e oceanos e o acesso à obtenção da matéria-prima necessária à investigação (Donia e Hamann, 2003). No entanto, a biodiversidade marinha é muito grande englobando

exemplares de 34 dos 36 filos até hoje conhecidos (Costa-Lotufo *et al.*, 2009). Com o avanço da tecnologia, a investigação no potencial dos organismos marinhos aumentou, tendo sido isoladas até à data mais de 12 000 novas moléculas com potencial ação farmacológica, muitas delas extraídas de macroalgas (Donia e Hamann, 2003;Costa-Lotufo *et al.*, 2009).

O trabalho desenvolvido teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre os principais compostos fenólicos com propriedades antioxidantes extraídos de macroalgas marinhas e que são alvo de estudo e interesse por parte da indústria farmacêutica, debatendo as suas potenciais aplicações terapêuticas.

A pesquisa bibliográfica foi efetuada num período compreendido entre os meses de outubro de 2015 e julho de 2016, através das fontes de pesquisa científicas *PubMed*, *B-ON* e Google Académico. Estas bases de dados científicas foram as utilizadas, pois são as que compilam o maior número de artigos destinados à área da saúde. As palavras-chave utilizadas foram “free radicals”; “antioxidant properties”; “phenolic compounds”; “seaweed”; “macroalgae”; “marine pharmacology”. Através destas palavras-chave foram encontrados 214 artigos dos quais foram utilizados 73. Foram excluídos os artigos que estavam relacionados com a análise quantitativa de compostos fenólicos, aqueles a que não foi possível aceder ao artigo completo e alguns em cuja informação científica não se revelou relevante, restando no final cerca de 59 artigos que foram alvo de análise detalhada.

II. Macroalgas marinhas

1. Considerações gerais

A ficologia ou algologia é a parte especializada da Botânica que se dedica ao estudo das algas. A palavra ficologia vem do grego *phycos* que significa alga marinha. As algas são organismos fotossintéticos, com um total de 25 a 30 espécies, com uma grande diversidade de formas e tamanhos. Têm uma ampla distribuição geográfica, colonizando

vários locais aquáticos. Podem ser encontradas a flutuar na água, em rochas molhadas, paredes, ou em associação com outros organismos, como no caso de líquens (Pereira *et al.*, 2015).

Existem dois grandes grupos de algas:

- As microalgas - que por apresentarem dimensões muito reduzidas só podem ser observadas com a ajuda de uma lupa ou microscópio (existem algas com apenas 0,001 mm de diâmetro). São, em regra, organismos simples, constituídos por uma única célula ou um número relativamente pequeno de células. No entanto, algumas formas de água doce de maior tamanho, mais complexas e visíveis a olho nu, são muitas vezes também abrangidas por esta designação (Pereira *et al.*, 2015).
- As macroalgas - algas de maior tamanho, em geral marinhas e por vezes com dimensões consideráveis (podendo atingir várias dezenas de metros de comprimento) cujo corpo chega a apresentar um elevado grau de complexidade.

As macroalgas podem ser classificadas em três filos distintos: *Chlorophyta* (algas verdes), *Phaeophyta* (algas castanhas) e *Rhodophyta* (algas vermelhas) (Pereira, 2009).

O filo *Chlorophyta* (Figura 2) é composto por algas verdes, extremamente abundantes nos ambientes aquáticos, onde constituem um dos mais importantes componentes do fitoplâncton. São responsáveis pela maior parte da produção de oxigénio molecular disponível no planeta a partir da fotossíntese. Habitam em águas doces ou salgadas, solos húmidos ou troncos. Estes organismos podem também estabelecer relações de mutualismo com outros seres vivos, como os fungos, formando os líquens. As algas

verdes acumulam amido no interior das células e contêm os pigmentos clorofilas a e b, carotenos e xantofilas. A presença de clorofilas a e b na mesma proporção da que ocorre nas plantas terrestres sustenta a ideia de que as algas verdes tenham sido as ancestrais das plantas (Barbosa *et al.*, 2014).

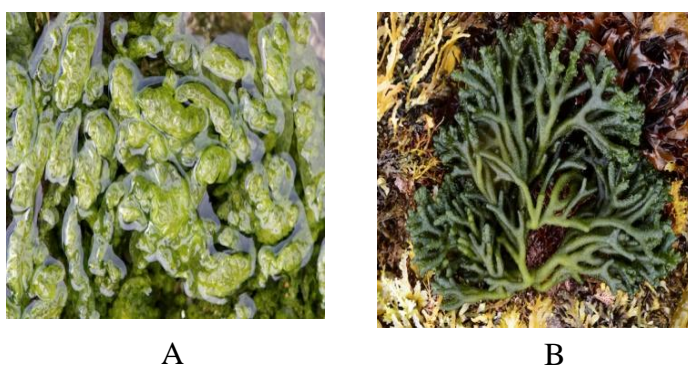


Figura 2 – A- Alga *Ulva intestinalis*; B – Alga *Codium tomentosum* (adaptado de <http://www.seaweed.ie>).

O filo Phaeophyta (Figura 3) é composto pelas algas castanhas e inclui organismos pluricelulares predominantemente marinhos (mais comuns em mares frios), vivendo fixados num substrato ou flutuando, formando imensas florestas submersas. As algas castanhas são as que atingem maiores dimensões, podendo encontrar-se exemplares com mais de 50 m. Nestes organismos são encontrados vários pigmentos tais como carotenoides e clorofilas a e c. Também estão presentes substâncias de reserva, tais como óleos e polissacarídeos (Vidotti *et al.*, 2004).

Propriedades antioxidantes de constituintes fenólicos de macroalgas marinhas: aplicações farmacoterapêuticas



Figura 2 – A - Alga *Cladostephus spongiosus*; B - Alga *Laminaria saccharina* (*Saccharina latíssima*); C - Alga *Ecklonia cava* (adaptado de <http://www.seaweed.ie>).

O filo *Rhodophyta* (Figura 4), é composto pelas algas vermelhas, quase que exclusivamente pluricelulares e marinhas (mais comuns em mares quentes), que vivem fixadas num substrato. A principal característica é a presença do pigmento ficoeritrina nas suas células, o qual é responsável pela coloração avermelhada destes organismos. As algas vermelhas possuem clorofilas a e d e carotenoides, e armazenam amido como material de reserva (Vidotti *et al.*, 2004).

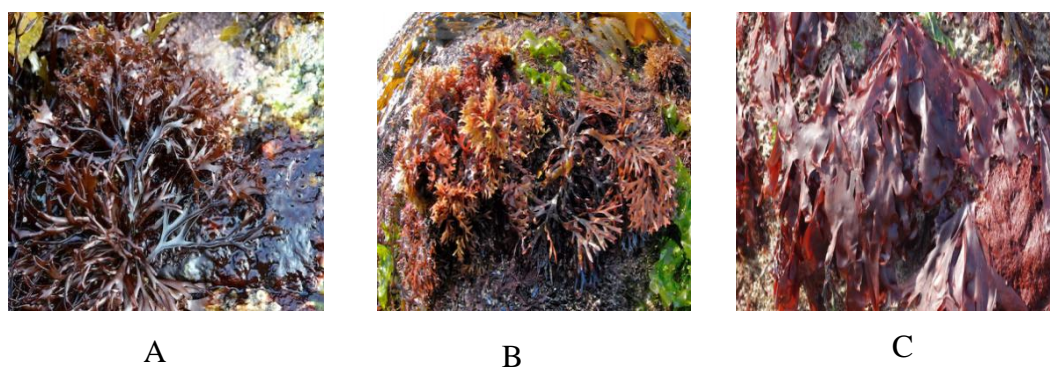


Figura 3 – A - Alga *Chondrus crispus*; B - Alga *Mastocarpus stellatus*; C - Alga *Palmaria palmata* (adaptado de <http://www.seaweed.ie>).

No que respeita à costa portuguesa, os 830 quilómetros de litoral apresentam zonas de areias a par com extensões rochosas, muitas das quais ricas em macroalgas. Foram identificadas 246 espécies de *Rhodophytas*, 98 espécies de *Phaeophytas* e 60 espécies de *Chlorophytas*. Como exemplos de macroalgas abundantes na costa portuguesa podem referir-se as macroalgas castanhas *Laminaria saccharina* (também designada *Saccharina latíssima*) e a *Fucus serratus*, as macroalgas vermelhas *Palmaria palmata* e a *Chondrus crispus* e as macroalgas verdes das espécies de *Ulva*, tais como a *Ulva intestinalis* (Pereira, 2004).

As macroalgas podem ser uma fonte natural interessante de novos compostos com atividade biológica. Algumas vivem em habitats complexos submetidos a condições ambientais extremas (salinidade, temperatura, nutrientes, radiação UV-Vis, e outros). Para sobreviver nestas condições adversas, têm de adaptar-se rapidamente através da produção de uma grande variedade de metabolitos secundários (a grande maioria biologicamente ativos), que não se encontram em outros organismos. Entre os vários compostos encontrados em algas, os que apresentam propriedades antioxidantes são, provavelmente, as substâncias que têm atraído maior interesse da indústria farmacêutica (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014). Tal como já foi referido uma substância antioxidante possui a capacidade de prevenir ou retardar eficazmente os efeitos adversos causados pelos radicais livres, mesmo quando presente em quantidades reduzidas (Munir *et al.*, 2013).

O uso de substâncias antioxidantes ao nível das indústrias alimentar e farmacêutica tais como o hidroxianisol butilado (BHA, código E-320), hidroxitolueno butilado (BHT código E-321) ou o propilgalato (E-310), bem como a ingestão de suplementos de antioxidantes, tais como, α -tocoferol e o ácido ascórbico têm vindo a ser utilizados para prolongar os prazos de validade dos alimentos e/ou para promover a saúde, reduzindo os danos oxidativos. No entanto, suspeita-se que a grande maioria dos antioxidantes sintéticos possam ser responsáveis por um número de efeitos secundários tais como

danos hepáticos e carcinogénese. Como resultado, os investigadores estão cada vez mais interessados em encontrar alternativas em substâncias naturais com propriedades antioxidantes (Munir *et al.*, 2013).

2. Compostos fenólicos com atividade antioxidante

Historicamente, as algas têm sido usadas pelas comunidades costeiras para preparar medicamentos caseiros com o objetivo de tratar vários problemas de saúde. Tais aplicações são o produto do conhecimento empírico de muitas gerações e, na maior parte dos casos, os seus mecanismos de ação são desconhecidos. Durante milhares de anos, estes tiveram, e ainda têm, uma grande importância na terapia de diversas doenças. A medicina popular continua a ter um lugar de destaque em muitos países. Estimativas mundiais indicam que 80% da população mundial não tem acesso aos produtos da indústria farmacêutica ocidental dependendo do uso de medicamentos que são principalmente derivados de plantas e outros produtos extraídos da natureza (Buss e Butler, 2010).

Na medicina popular as algas verdes têm sido utilizadas como anti-helmínticos, adstringentes, e no tratamento da gota, as algas castanhas no tratamento de doenças reumáticas, arteriosclerose, distúrbios menstruais, hipertensão, úlceras gástricas, bócio, doenças de pele, sífilis, e como um anticoagulante, e as algas vermelhas como anticoagulantes, anti-helmínticos, e em tratamento de gastrites e diarreias (Pereira *et al.*, 2015). Com o avanço do conhecimento científico é hoje possível associar muitas destas ações biológicas à presença de determinados compostos nos extratos de algas usados. Por exemplo, sabe-se hoje que o bom resultado obtido com a utilização de alga marinha (*Laminaria spp.*) no tratamento de bócio é devido ao facto da origem desta doença estar associado a uma dieta pobre em iodo, elemento químico presente em quantidades significativas nas algas castanhas (Pereira *et al.*, 2015).

Tal como já foi referido, as macroalgas muitas vezes experimentam a exposição a níveis elevados de radiações UVB e UVA. A referida exposição à luz é necessária para a realização da fotossíntese. No entanto, o excesso de radiação, a par de outros fatores ambientais tais como baixas temperaturas, oscilações nos níveis de salinidade, poluição (nomeadamente exposição a metais pesados), etc., podem contribuir para uma produção excessiva de ROS, o que pode comprometer o próprio processo fotossintético. A manutenção de um equilíbrio de oxidação/redução metabólico é essencial para a saúde e a produtividade das macroalgas. Para combater o excesso de produção de espécies radicais prejudiciais, as algas desenvolveram mecanismos, tais como a foto-inibição que leva a uma redução reversível na taxa fotossintética (Cornish e Garbary, 2010).

O incremento da síntese de antioxidantes e de enzimas antioxidantes, tais como os carotenoides, os compostos fenólicos e/ou a SOD, bem como a existência de métodos de reparação celular por foto-reativação e excisão de nucleotídeos são também estratégias para a manutenção da homeostasia (Cornish e Garbary, 2010; Shin *et al.*, 2014).

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos das macroalgas resulta da capacidade de eliminar radicais formados durante o processo de peroxidação, eliminar ROS e/ou da capacidade de quelatação de iões metálicos (Munir, *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2011).

De entre os compostos fenólicos existentes nas macroalgas destacam-se os florotaninos encontrados nas algas castanhas, tais como *Ecknolia cava*, *Ecknolia kurome*, *Eisenia bicyclis*, e *Hizikia fusiformis*, que apresentam atividades antioxidantes potentes e efeitos protetores, nomeadamente contra o dano celular induzido pelo peróxido de hidrogénio. Além disso, alguns florotaninos tais como o ecol, o florofucofuroecol A, o diecol, e o 8,8 biecol mostraram uma enorme capacidade de inibir a peroxidação de fosfolípidos e neutralizar determinadas ROS (como, por exemplo, o radical superóxido) revelando-se mais eficazes do que o ácido ascórbico ou o α -tocoferol (Li *et al.*, 2011).

Foram identificados vários compostos em macroalgas marinhas que apresentam atividade antioxidante. No âmbito deste trabalho, apenas serão abordados os compostos fenólicos (compilados na Tabela 2), que irão se debatidos seguidamente com maior profundidade, nomeadamente no que respeita às suas vantagens na promoção da saúde (Cornish e Garbary, 2010).

Tabela 2 – Principais grupos de compostos antioxidantes em macroalgas e suas propriedades biológicas

Grupo químico	Exemplo de composto	Espécie	Propriedades biológicas	Referências
Ácido fenólico	Ácido Gálico	<i>Focus vesiculosus</i>	Anti- HIV –1	Gamal, 2010
Ácido fenólico	Ácido hidroxibenzóico	<i>Calophrysus serratus</i>	Antibacteriano Antifúngico Anti-malárico	Gamal, 2010
Bromofenóis	Bromofenol	<i>Vidalia obtusiloba</i>	Anti-inflamatório	Gamal, 2010.
		<i>Bifurcaria bifurcata</i>	Antidiabético Antimicrobiano	Cornish <i>et al.</i> , 2010.
		<i>Polysiphonia urceolata</i>	Captador de radical livre	Ahamadi <i>et al.</i> , 2015
Flavonóis	Flavonóis	<i>Palmaria palmata</i>	Anti-HIV	Gamal, 2010.
Taninos	Floroglucinol	<i>Ecknolia cava</i>	Anti-inflamatório	Shin <i>et al.</i> , 2014.
		<i>Ecknolia stolonifera</i>	Inibidor α -glicosídase	Lee e Jeon, 2013.
		<i>Eisenia bicyclis</i>	Antidiabético	Li <i>et al.</i> , 2011.
	Florotaninos	<i>Ecknolia cava</i>	Anti-inflamatório Antialérgico Antibacteriano Anti-hipertensor Antidiabético	Li <i>et al.</i> , 2011, Thomas e Kim, 2011.
		<i>Ecknolia stolonifera</i>	Anti-hipertensor	Thomas e Kim, 2011.
		<i>Hizikia fusiforme</i>	Anti-hipertensor	Li <i>et al.</i> , 2011.
		<i>Laminaria japonica</i>	Antineoplásico	Thomas e Kim, 2011.
		<i>Sargassum pallidum</i>	Anti-inflamatório	Thomas e Kim, 2011.
		<i>Ulva pertusa</i>	Foto quimiopreventivo	Lee e Jeon, 2013.

3. Potenciais aplicações dos compostos fenólicos derivados de macroalgas

3.1. Nutrição

O consumo de macroalgas pelo ser humano encontra-se documentado desde 600 a.C. (Aguilera-Morales *et al.*, 2005). Na atualidade os maiores consumidores são a China, o Japão, a Coreia, a Indonésia, as Filipinas e, em menor extensão, a França, a Irlanda, a Islândia, a Noruega, o País de Gales e as regiões costeiras dos Estados Unidos da América (Murphy *et al.*, 2014).

Os benefícios do consumo de macroalgas foram, numa primeira fase identificados através de estudos epidemiológicos que demonstraram uma menor prevalência de determinadas doenças, tais como algumas neoplasias e doenças cardiovasculares nos países com maior consumo (Teas *et al.*, 2011). Assim, hoje em dia é consensual que a inclusão de macroalgas na dieta, não só acarreta benefícios nutricionais, mas também benefícios para a manutenção da saúde do indivíduo. Por outro lado, a indústria alimentar tem vindo a demonstrar um crescente interesse no uso de macroalgas como possíveis fontes de antioxidantes naturais, tendo como objetivo o uso destes em substituição de antioxidantes sintéticos tais como o BHA (E-320) ou o BHT (E-321) (Cornish e Garbary, 2010).

Nos últimos anos, tem igualmente existido um interesse crescente nos chamados alimentos funcionais, ou seja, alimentos que possam contribuir para a manutenção da saúde e a redução do risco de doenças. As macroalgas têm vindo a ser estudadas também nesta perspetiva (Munir *et al.*, 2013).

A investigação está a avançar, por exemplo, no sentido da incorporação de macroalgas na produção de novos alimentos, tais como bebidas e produtos de carne processada (Cornish e Garbary, 2010).

3.2. Cosmética

Vários componentes extraídos de macroalgas são frequentemente utilizados em cosmética como agentes espessantes, agentes de ligação de água e antioxidantes.

As empresas de cosméticos reivindicam diversos benefícios para a pele e/ou saúde em geral resultantes da incorporação nas suas formulações de extratos de algas e/ou produtos extraídos das mesmas. Destaca-se o uso de determinados polissacarídeos, proteínas, lipídios, bem como o elevado teor de determinadas vitaminas e minerais em algumas espécies (tais como a vitamina A, a vitamina B₁, ferro, fósforo, sódio, cobre, magnésio, cálcio entre outros). O uso de extratos de algas em produtos cosméticos é também apontado como vantajoso na medida em que estes conseguem inibir a degeneração oxidativa de colagénio e ácido hialurónico e apresenta propriedades anti-envelhecimento (Hallmann, 2007). Contudo, nem todas as vantagens apontadas pela indústria cosmética se encontram devidamente comprovadas cientificamente (Hallmann, 2007).

Como exemplos de espécies utilizadas na indústria cosmética podem referir-se: *Alaria esculenta*, *Ascophyllum nodosum*, *Chlorella vulgaris*, *Chondrus crispus*, *Corallina pilulifera*, *Cystoseira mediterranea*, *Dunaliella salina*, *Ecklonia cava*, *Ecklonia kurome*, *Ectocarpus siliculosus*, *Eisenia arborea*, *Eisenia bicyclis*, *Enteromorpha linza*, *Fucus vesiculosus*, *Gracilaria gracilis*, *Laminaria spp.*, *Laurencia luzonesis*, *Laurencia rígida*, *Mastocarpus stellatus*, *Nannochloropsis oculata*, *Palmaria palmata*, *Porphyra spp.*, *Spirulina platensis*, *Ulva Lactuca*, *Ulva rigida*, *Undaria pinnatifida* e outros (Hallmann, 2007; Fitton *et al.*, 2015; Thomas e Kim, 2013).

A radiação UV, tem um efeito nocivo para a pele, nomeadamente porque contribui para o aumento da quantidade de ROS, que está implicado não só com o envelhecimento cutâneo, como também com o aparecimento de lesões mais graves, designadamente de natureza neoplásica (Fitton *et al.*, 2015). Assim, também para a indústria da cosmética é muito importante a descoberta de moléculas com atividade antioxidante e que simultaneamente se encontrem isentas de toxicidade.

Tal como referido anteriormente, as macroalgas marinhas castanhas são ricas em florotaninos. Os florotaninos são moléculas formadas por unidades de floroglucinol (1,3,5-trihidroxibenzeno) ligadas umas às outras de diversas formas (Figura 5). Em estudos conduzidos *in vivo*, vários florotaninos têm vindo a demonstrar um interessante efeito protetor face ao dano oxidativo provocado pela exposição da pele à radiação UVB (Hwang *et al.*, 2006).

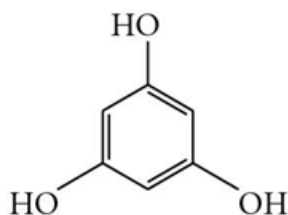


Figura 4 – Estrutura química de floroglucinol (adaptado de Thomas e Kim, 2011).

Por outro lado, estes compostos revelaram possuir capacidade inibidora da tirosinase e da elastase (Kang *et al.*, 2004). Com o envelhecimento da pele a epiderme torna-se mais fina e os melanócitos sofrem hiperplasia. A exposição aos raios UV resulta no aparecimento de manchas hiperpigmentadas, devido ao aumento de deposição de melanina. A tirosinase é uma enzima multifuncional, que catalisa as primeiras duas etapas da melanogénese (processo responsável pela formação de pigmentos escuros, tais como a melanina). A inibição da tirosinase previne esta hiperpigmentação da pele, o que

se traduz numa vantagem para a indústria cosmética. Vários florotaninos conseguem quelatar o catião cobre essencial para a ação da tirosinase, inibindo desta forma a ação desta enzima (Thomas e Kim, 2011). Ao nível da derme ocorre uma perda de colagénio e uma redução das fibras de elastina (o que implica perda de elasticidade da pele). Esta perda de elasticidade pode ser retardada através do recurso a inibidores da elastase, enzima proteolítica do grupo das metaloproteínas que quebra as fibras de elastina (Thring *et al.*, 2009).

Vários florotaninos possuem igualmente uma forte ação antioxidante. Por exemplo, o diecol e o ecol, florotaninos derivados de *Ecklonia cava* (Figura 6) demonstraram possuir a capacidade de reduzir as ROS intracelulares geradas pela radiação de raios gama (Li *et al.* 2011). Além disso, o ecol pode proteger a pele contra os danos do DNA celular induzidos por radiação e contra a peroxidação lipídica da membrana (Li *et al.* 2011). Um estudo paralelo revelou a capacidade dos florotaninos ecol e diecol isolados da *Ecklonia stolonifera* diminuírem a expressão da metaloproteinase de matriz-1 (MMP-1, do inglês *matrix metalloproteinase-1*). As MMPs são enzimas capazes de degradar diversos componentes da matriz extracelular, nomeadamente colagénio e elastina. Este estudo reforça as evidências científicas de que o ecol e o diecol são promissores agentes retardadores do envelhecimento da pele (Thomas e Kim, 2011).

Propriedades antioxidantes de constituintes fenólicos de macroalgas marinhas: aplicações farmacoterapêuticas

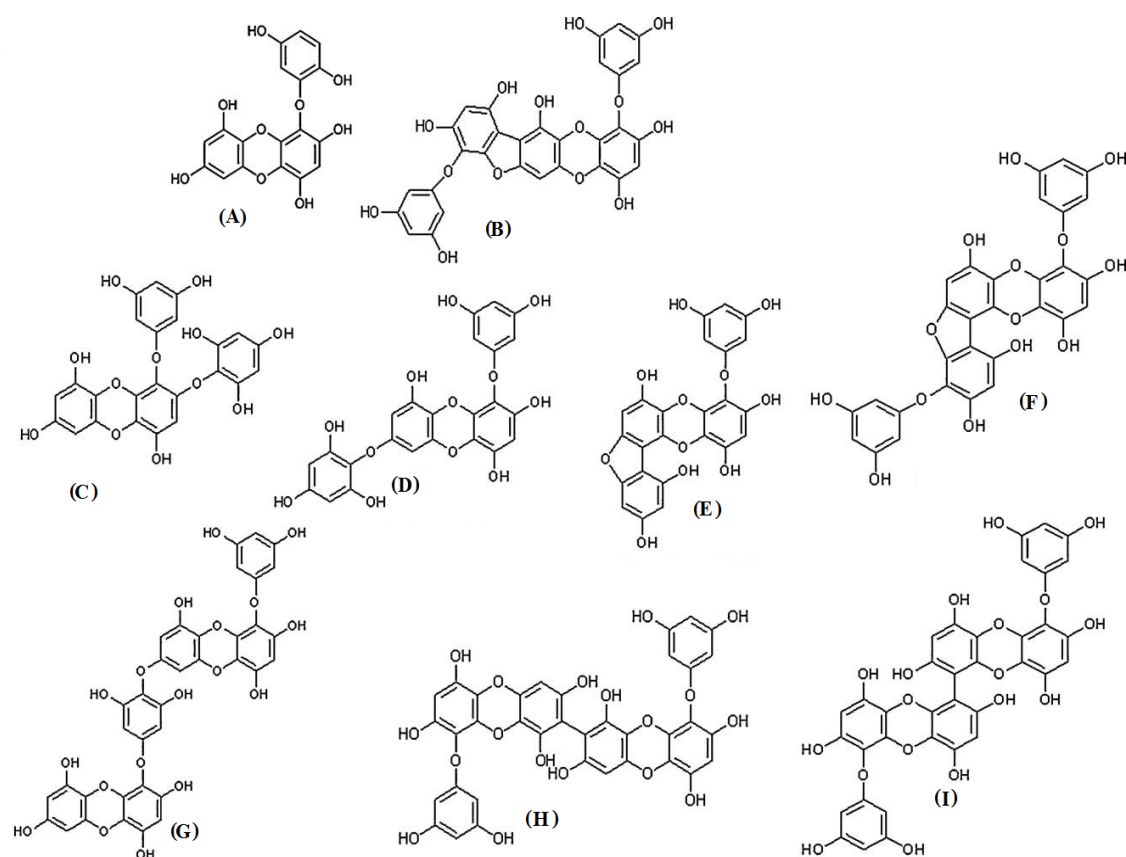


Figura 5 – Estruturas químicas de florotananos derivados de macroalgas castanhas. (A) - ecol; (B) – florofucofuroecol; (C) – 2-floroecol; (D) – 7-floroecol; (E) – fucofuroecol A; (F) – florofucofuroecol A; (G) – diecol; (H) – 8,8'-biecol; I- 6,6'-biecol (Adaptado de Thomas e Kim, 2011).

3.3. Desenvolvimento de Medicamentos

Tal como já referido, os polifenóis são metabolitos secundários comuns encontrados em todas as plantas. Nas plantas terrestres os flavonoides e os ácidos fenólicos (como o ácido gálico) são bem conhecidos por terem várias funções bioativas. No entanto, a informação científica sobre as propriedades bioativas dos compostos fenólicos

existentes nas macroalgas marinhas do ponto de vista da saúde humana é bastante mais escassa (Thomas e Kim, 2011). Ainda assim, existem alguns estudos recentes que têm colocado em evidência as propriedades farmacológicas de vários compostos fenólicos marinhos, que se revelaram bastante promissores quer na prevenção de determinadas doenças (nomeadamente doenças cardiovasculares e neoplásicas) quer no tratamento de outras (por exemplo, doenças infecciosas) (Thomas e Kim, 2011; Munir *et al.*, 2013).

A quantidade e o tipo de compostos fenólicos variam consoante o tipo de macroalgas. As macroalgas castanhas acumulam uma variedade de florotaninos e têm vindo a ser amplamente estudadas (Cabral *et al.*, 2011). Foram reportadas atividades biológicas interessantes das quais se destacam as atividades anticancerígena, antibacteriana, anti-HIV, antialérgica, anti-hipertensiva, anti-inflamatória e antidiabética nas seguintes espécies: *Ecklonia cava*, *Ecklonia stolonifera*, *Ecklonia kurome*, *Eisenia bicyclis*, *Ishige okamurae*, *Sargassum thunbergii*, *Hizikia fusiformis*, *Undaria pinnatifida* e *Laminaria japonica* (Li *et al.*, 2011; Thomas e Kim, 2011).

Apesar de os florotaninos serem a classe predominante de compostos fenólicos nas macroalgas castanhas foram igualmente identificados, ainda que em menores quantidades, catequinas e ácidos fenólicos. Estes compostos também já foram isolados de macroalgas vermelhas (Cabral *et al.*, 2011; Balboa *et al.*, 2013).

Determinadas espécies de macroalgas vermelhas, por exemplo a *Osmundaria serrata*, possuem lanosol (Figura 7), um bromofenol com reconhecidas propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias (Cabral *et al.*, 2011).

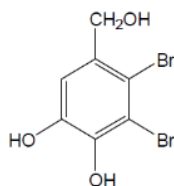


Figura 6 - Estrutura química do lanosol (Adaptado de <http://www.chemspider.com>).

No que respeita às algas verdes, os estudos desenvolvidos apontam para a predominância de ácidos fenólicos tais como o ácido hidroxibenzóico, ácido sirínico e ácido cumárico (Figura 8). No entanto, as espécies de *Chlorophytas* mais amplamente estudadas (nomeadamente *Ulva spp*) revelaram possuir uma fraca atividade antioxidante (Farvin *et al.*, 2013).

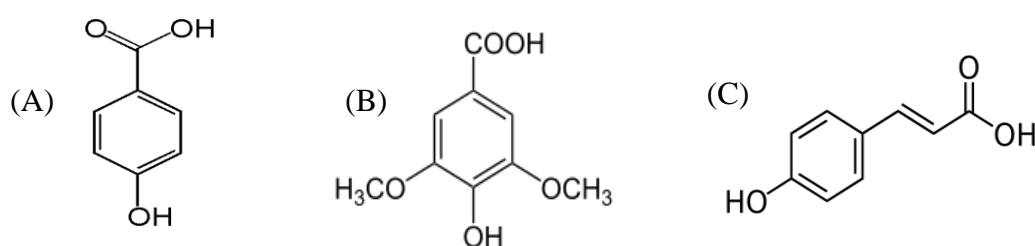


Figura 7 – Estrutura química de alguns ácidos fenólicos predominantes em macroalgas verdes. (A) Ácido hidroxibenzóico; (B) Ácido sirínico e (C) Ácido cumárico (Adaptado de <http://www.sigmaaldrich.com/united-kingdom.html>).

Assim, atualmente, é indiscutível que as algas castanhas se revelam as mais promissoras ao nível da indústria farmacêutica.

As principais atividades biológicas dos compostos fenólicos das macroalgas irão ser de seguida analisadas com mais pormenor.

i. Atividade antibacteriana

Os florotaninos são eficazes contra algumas bactérias patogénicas que podem colonizar os alimentos. Por exemplo o diecol e o 8,8' biecol (Figura 6) extraídos da *Ecklonia kurome*, conseguiram com sucesso reduzir o crescimento de *Campylobacter jejuni* e *Vibrio parahaemolyticus* (Nagayama *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2011). De entre estas duas bactérias, a primeira mostrou-se mais sensível à ação dos florotaninos.

Uma outra espécie de macroalga castanha, a *Ascophyllum nodosum* mostrou possuir alguma ação antibacteriana, reduzindo a prevalência das estirpes de *Escherichia coli*, em fezes de bovinos. (Li *et al.*, 2011). A inclusão de extratos desta alga na alimentação de frangos demonstrou igualmente uma interessante atividade antibacteriana face à estirpe *Campylobacter jejuni* (Sweeney *et al.*, 2016). Esta ação é atribuída por vários autores à presença de florotaninos nestes extratos (Sweeney *et al.*, 2016).

As algas vermelhas *Callophyeus serratus* permitiram o isolamento de três compostos fenólicos diterpênicos (Figura 9) com propriedades antibacterianas e anti-fúngicas. Dois dos compostos são halogenados (bromoficolide A e bromoficolide B) e o terceiro é não halogenado (Gamal, 2010).

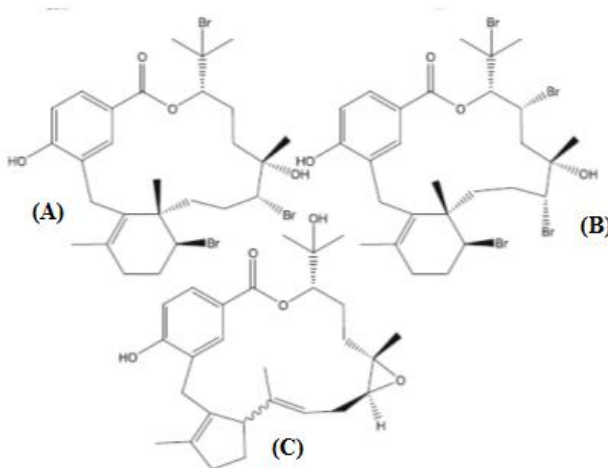


Figura 8 – Estrutura química de compostos fenólicos diterpênicos isolados de algas vermelhas. (A) – bromoficolide A; (B) – bromoficolide B e (C) – composto não halogenado (Adaptado de Gamal, 2010).

ii. Atividade Anti-HIV

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV, do inglês *Human Immunodeficiency Virus*) continua a

ser um grave problema de saúde pública mundial. Em 2015, 1,1 milhões de pessoas morreram de causas relacionadas com esta infeção no mundo todo. A nível mundial, no final de 2015 havia cerca de 36,7 milhões de pessoas que viviam com o HIV, sendo que 2,1 milhões de pessoas foram infetadas com o vírus nesse mesmo ano (WHO, 2016).

A primeira geração de fármacos com atividade anti-HIV englobava moléculas análogas de nucleósidos que apresentavam a capacidade de inibir uma das enzimas fundamentais para a replicação do HIV, a transcriptase reversa. No entanto, rapidamente começaram a surgir resistências a estes fármacos, o que impulsionou a investigação nesta área, no sentido da descoberta de novas moléculas capazes de ultrapassar esta dificuldade. Os compostos bioativos naturais e os seus derivados, particularmente as moléculas isoladas de macroalgas marinhas constituem uma promissora alternativa aos fármacos já existentes, dada a sua eficácia e limitados efeitos colaterais. Algumas destas moléculas encontram-se atualmente em estudos clínicos ou pré-clínicos (Thomas e Kim, 2011).

O 6,6' biecol (Figura 6), um dos principais derivados de floroglucinol abundante nas algas *Ecklonia cava*, demonstrou possuir atividade de anti-HIV, por uma associação de mecanismos. Esta molécula revelou a capacidade de: (a) diminuir a lise das células infetadas pelo HIV; (b) inibir a transcriptase reversa do HIV-1; (c) inibir a entrada dos vírus nas células levando a uma inibição do processo de fusão (Artan *et al.*, 2008). Os mesmos autores confirmaram igualmente a inibição na produção de antígenos HIV-1 p24.

Outro grupo de pesquisa relatou a atividade inibitória de outros florotaninos: o 8,8' biecol (Figura 6) e o 8,4'' diecol (Figura 10), sobre a transcriptase reversa do HIV-1 e sobre a protease (Thomas e Kim, 2011). O 8,8' biecol revelou uma maior potência, sendo a sua atividade inibitória da transcriptase reversa comparável à da nevirapina, um fármaco comercializado e vulgarmente usado no tratamento da infeção por HIV (Thomas e Kim, 2011).

Propriedades antioxidantes de constituintes fenólicos de macroalgas marinhas: aplicações farmacoterapêuticas

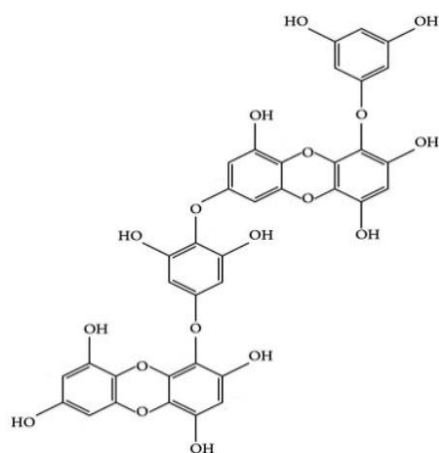


Figura 9 – Estrutura química de 8,4'' diecol (Adaptado de Karadeniz, et al., 2014).

Outros dois compostos fenólicos sesquiterpênicos (peissonol A e peissonol B) isolados de extratos de macroalgas vermelhas de *Peyssonnelia* sp. revelaram igualmente possuir a capacidade de inibir a transcriptase reversa do HIV (Figura 11) (Gamal, 2010).

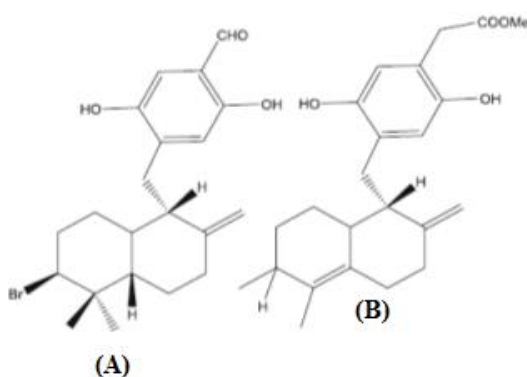


Figura 10 – Estrutura química de compostos fenólicos isolados de macroalgas vermelhas. (A) – peissonol A; (B) – peissonol B (Adaptado de Gamal, 2010).

iii. Atividade anti-hipertensora

As doenças cardiovasculares (DCV) são todas aquelas que afetam o normal funcionamento do coração e de todos os vasos sanguíneos. São exemplos de DCV as doenças coronárias (ex.: aterosclerose), as doenças cerebrovasculares (ex.: acidente vascular cerebral), acidente isquêmico transitório, a doença arterial periférica, as doenças cardíacas reumáticas (ex.: estenose mitral), a hipertensão arterial, a doença cardíaca congênita, a trombose venosa profunda e a embolia pulmonar (WHO, 2013).

Apesar de muitas destas patologias poderem ser tratadas ou prevenidas, estima-se que, por ano, 17,1 milhões de pessoas morram de DCV (WHO, 2016). A idade, o gênero, níveis elevados de colesterol, nomeadamente de lipoproteínas de baixa densidade (LDL, do inglês *Low Density Lipoprotein*), a diabetes e obesidade são reconhecidos como fatores de risco para DCV mas, segundo a OMS, um número substancial dessas mortes pode ser atribuído a determinados hábitos de vida como o tabagismo, que aumenta o risco de morte por doença cardíaca coronária e doença cerebrovascular em cerca de 2-3 vezes. Este risco aumenta também com a idade e é maior para as mulheres do que para os homens. Em contraste, os eventos cardíacos diminuem em 50% em pessoas que param de fumar, havendo uma redução significativa do risco de doenças cardiovasculares (incluindo enfarte agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e doença vascular periférica) ao longo dos dois primeiros anos após a cessação tabágica (WHO, 2016).

Vários estudos patofisiológicos sugerem claramente que as DCV representam um conjunto de processos prolongados no tempo que inclui o stress oxidativo, disfunção endotelial, processos inflamatórios e remodelação vascular (Cornish e Garbary, 2010). A ingestão de alimentos ricos em antioxidantes tem sido apontada como auxiliar na prevenção destas doenças. Estudos que incidiram na avaliação da relação entre os hábitos alimentares da população japonesa e a baixa incidência de DCV nesta população, demonstraram que uma dieta rica em alimentos antioxidantes, incluindo

macroalgas, reduzia marcadamente o risco de mortalidade por DCV (Cornish e Garbary, 2010).

No que respeita à hipertensão, uma das principais estratégias farmacológicas para controlar os níveis de pressão sanguínea é o recurso a fármacos capazes de inibir a enzima conversora da angiotensina I em angiotensina II (vulgarmente designados de IECAs). A investigação nesta área revelou que alguns florotaninos isolados das algas *E. stolonifera*, nomeadamente o ecol, o florofucofuroecol A (Figura 6) e o diecol apresentavam a capacidade de inibir a enzima conversora da angiotensina (provavelmente por conseguirem sequestrar o catião Zn^{2+} - essencial para a ação da referida enzima) (Liu *et al.*, 2008). Para além dos florotaninos, também alguns metabolitos de extratos de algas vermelhas revelaram possuir a mesma capacidade inibitória (Thomas e Kim, 2011).

iv. Atividade antialérgica

A alergia é causada por uma reação exagerada do sistema imunitário a algumas substâncias com forma de as tornar inócuas, tais como pelos de animais, ácaros da poeira, compostos presentes em alimentos, pólen, insetos e agentes químicos (Vo *et al.*, 2012).

As doenças alérgicas são um dos principais problemas de saúde pública no mundo desenvolvido. Estima-se que cerca de um terço da população mundial, e um quinto da população dos países ocidentais sejam afetadas por doenças alérgicas (Vo *et al.*, 2012). De entre elas destacam-se a rinite alérgica, a asma e o eczema atópico. A prevalência, gravidade, e complexidade dessas doenças alérgicas está a aumentar rapidamente, o que implica um incremento considerável dos custos em cuidados de saúde.

Sabe-se que a inibição da produção de Imunoglobulina E (IgE) e/ou a diminuição da concentração de IgE resulta no controlo de várias doenças alérgicas. Existem atualmente no mercado algumas moléculas que atuam desta forma, nomeadamente o omalizumab. Esta é, no entanto, uma terapêutica muito cara (Thomas e Kim, 2011).

Vários têm sido os trabalhos de pesquisa com o objetivo de encontrar entre os metabolitos das macroalgas marinhas, moléculas com atividade antialérgica. Um destes estudos comprovou que alguns florotaninos extraídos de *Ecklonia cava*, nomeadamente o 6,6'-biecol (Figura 6), apresentavam uma promissora atividade antialérgica (Le *et al.*, 2009). Também, Sugiura e colaboradores demonstraram, em ensaios *in vitro*, a potencial ação antialérgica de outro florotanino – o florofucofuroecol B (Figura 6), isolado de algas da espécie *Eisenia arborea* (Sugiura *et al.*, 2006; Sugiura *et al.*, 2008).

Muitos florotaninos surgem assim como potenciais antialérgicos por diminuírem simultaneamente os níveis séricos de IgE e de histamina (Thomas e Kim, 2011).

v. Atividade antineoplásica

A formação de células neoplásicas pode ser induzida por radicais livres e o uso de fármacos anticancerígenos naturais como agentes quimiopreventivos tem ganho uma crescente popularidade. Assim, compostos como os florotaninos, podem ser utilizados para eliminar esses radicais minimizando o processo inerente à formação da neoplasia (Li *et al.*, 2011).

Os efeitos antineoplásicos de determinados constituintes das macroalgas marinhas podem, no entanto, ir além da sua ação antioxidante. Alguns florotaninos extraídos de *Ecklonia cava* demonstraram a capacidade de reduzir o crescimento de células MCF-7 (células de cancro da mama humano) através da indução da sua apoptose (Kong *et al.*, 2009; Li, *et al.*, 2011). Foram igualmente efetuados estudos com outras linhas celulares neoplásicas, e, mais uma vez, vários florotaninos tais como o diecol, ecol,

florofucofuroecol (Figura 6) e fucodifloroetol G (Figura 12) de *Ecklonia cava* demonstraram uma interessante atividade antiproliferativa e citotóxica (Li *et al.*, 2011).

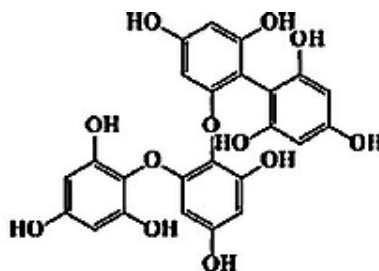


Figura 11 – Estrutura química de fucodifloroetol G (Adaptado de Vo *et al.*, 2012).

A ação destes florotaninos foi também testada, com outras linhagens de células neoplásicas humanas, tais como HT1080, A549 e HT-29 tendo os estudos revelado igualmente um potente efeito citotóxico. Curiosamente este efeito foi bastante menor quando os compostos foram avaliados com células representativas dos fibroblastos pulmonares normais – linhagem MRC-5 (Li *et al.*, 2011).

Hwang e colaboradores avaliaram o efeito da introdução de polifenóis de macroalgas castanhas na dieta de ratos com lesões pré-malignas. Estes autores verificaram uma redução no aparecimento de tumores e no volume dos mesmos que se situou entre os 45 e os 65%, consoante a quantidade de polifenóis administrada. Os mesmos autores constataram, igualmente, que a aplicação tópica de extratos de macroalgas castanhas conduzia a uma diminuição muito significativa do número e volume dos tumores (Hwang *et al.*, 2006). Acredita-se que os polifenóis de algas castanhas inibem a atividade da ciclo-oxigenase-2 e a proliferação celular, o que impede a progressão tumoral (Hwang *et al.*, 2006).

Outros três compostos fenólicos, os meroterpenoides: sargol, sargol I e sargol II (Figura 13), isolados da alga castanha *Sargassum tortile* revelaram possuir uma atividade citotóxica interessante (Gamal, 2010).

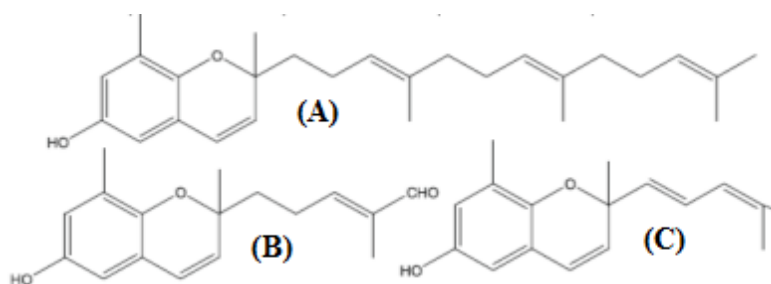


Figura 12 – Estrutura química de meroterpenoides. (A) – sargol; (B) – sargol I; (C) – sargol II (Adaptado de Gamal, 2010).

Das algas verdes tropicais *Arrainvillia rawsonii* foi isolado por Chen e colaboradores, um outro composto fenólico – o isorawsonol (Figura 14), que revelou possuir ação inibitória da enzima inosina-5'-monofosfato desidrogenase. Esta enzima tem vindo a ser relacionada com a proliferação celular, pelo que este composto apresenta promissoras ações antineoplásica e imunossupressora (Chen e Gerwic, 1994; Gamal, 2010).

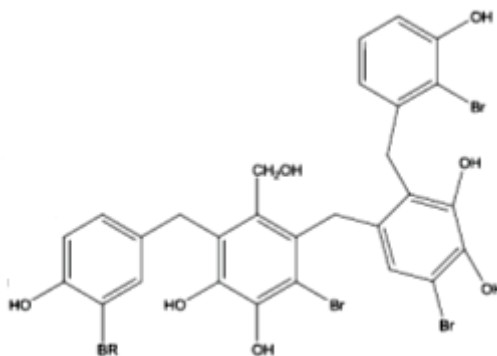


Figura 13 – Estrutura química de isorawsonol (Adaptado de Gamal, 2010).

De uma outra espécie de macroalgas verdes (*Cymopolia barbata*), foram isolados dois novos compostos – o cimobarbatol e o 4-isocimobarbatol (Figura 15). Em ensaios realizados com estirpes de *Salmonella tybimurium* T-98 e T-100, ambos revelaram

possuir uma elevada capacidade de inibir a mutagenicidade causada pela ação do 2-aminoantraceno e do etilmetanosulfonato (Wall *et al.*, 1989; Gamal, 2010).

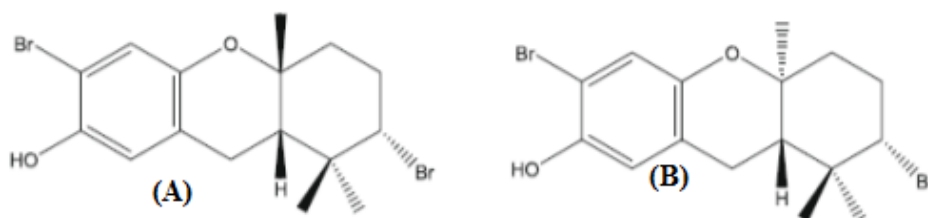


Figura 14 – Estrutura química de compostos isolados de macroalgas verdes. (A) – cimobarbatol; (B) – 4-isocimobarbatol (Adaptado de Gamal, 2010).

Tal como já foi referido, as macroalgas vermelhas *Callophyeus serratus* possuem três metabolitos secundários, que apresentam atividades antibacteriana e anti-fúngica. Um destes compostos, o bromoficolide A (Figura 9) revelou ser também citotóxico face a várias linhagens de células tumorais, por possuir a capacidade de induzir apoptose (Gamal, 2010).

Uma outra espécie de algas vermelhas, *Laurencia microcladia* permitiu o isolamento de sesquiterpenos (Figura 16) com atividade citotóxica face a duas linhagens de células neoplásicas (NSCLC-N6 e A-549) (Gamal, 2010).

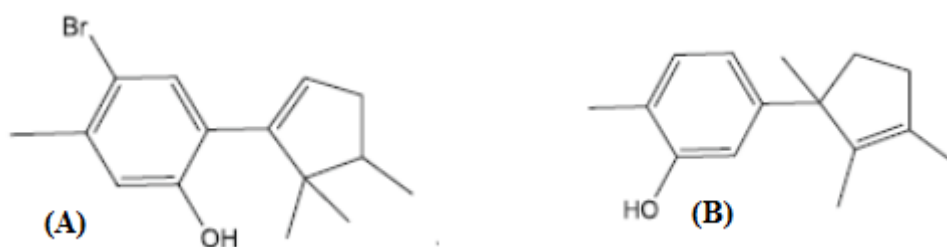


Figura 15 – Estrutura química de sesquiterpenos (Adaptado de Gamal, 2010).

A alga castanha *Stylpopodium zonale*, recolhida na costa de Tenerife foi a fonte de obtenção de um composto terpénico, o terpenoide C (Figura 17). O éster metílico deste composto demonstrou possuir atividade citotóxica face a três linhagens de células neoplásicas (HT-29, H-116 e A-549) (Gamal, 2010).

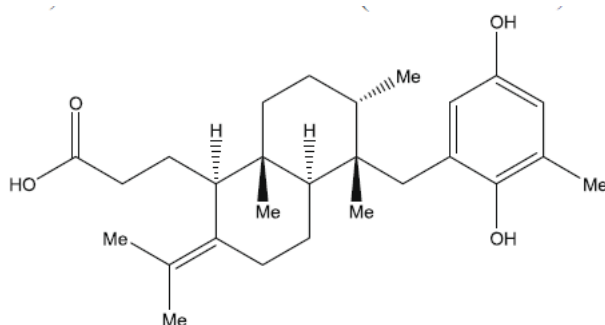


Figura 16 – Estrutura química do terpenoide C (Adaptado de Gamal, 2010).

vi. Atividade antidiabética

A *diabetes mellitus* (DM) é uma das doenças crónicas mais caras e problemáticas, sendo reconhecido que a sua prevalência tem vindo a aumentar em todo o mundo. O número de diabéticos aumentou de 108 milhões em 1980 para 422 milhões em 2014. A diabetes é uma das principais causas de cegueira, insuficiência renal, ataques cardíacos, acidente vascular cerebral e amputação dos membros inferiores. Em 2012, cerca de 1,5 milhões de mortes foram causadas diretamente pelo diabetes e outros 2,2 milhões de mortes foram atribuídos a glicemia elevada (WHO, 2016).

Em termos médicos, a DM é uma doença metabólica crónica causada por uma deficiência (hereditária ou adquirida) na produção de insulina e/ou por uma resistência periférica à ação da insulina. Este facto resulta num aumento da concentração de glicose na corrente sanguínea, que por sua vez pode danificar muitos dos sistemas e tecidos, incluindo vasos sanguíneos e nervos (Orgunmefun *et al.*, 2015).

A DM é classificada em dois tipos: tipo I e tipo II. A diabetes tipo I normalmente é controlada pela administração de insulina enquanto na diabetes tipo II é comum o recurso a fármacos de administração oral. Atualmente são várias as classes de antidiabéticos orais disponíveis. Os mais antigos têm como alvos terapêuticos enzimas que desempenham um papel preponderante na digestão dos hidratos de carbono provenientes da alimentação (por exemplo, α -glucosidase e α -amilase). A inibição de qualquer uma destas enzimas resulta numa absorção mais lenta de glucose, e, por conseguinte, na redução dos níveis de glucose no plasma (Thomas e Kim, 2011). Por outro lado, os antidiabéticos orais mais recentes, designados por potenciadores das incretinas, aumentam a libertação de incretinas (hormonas intestinais que são produzidas em resposta à ingestão de nutrientes) potenciando a secreção de insulina de uma forma dependente da glucose (Holste e Gromada, 2004; Ferreira, 2011). Embora estes novos fármacos apresentem menores efeitos secundários, continua a existir um grande interesse na descoberta de compostos naturais que possam contribuir para a manutenção de níveis de glucose normais nos doentes com DM tipo II. Alguns estudos demonstraram que o ecol, e o diecol isolados de extratos de algas *Eisenia bicyclis* inibem a ação das enzimas α -glucosidase e α -amilase (Thomas e Kim, 2011). Uma outra investigação demonstrou que o florofucofuroecol A isolado de *Ecklonia stolonifera* apresenta efeitos preventivos no que respeita a algumas das complicações da DM (Jung *et al.*, 2008). De facto, muitos florotaninos são inibidores eficazes da aldose reductase. Esta enzima catalisa a conversão de glucose em sorbitol no interior das células. Por sua vez, a acumulação de sorbitol no meio celular conduz ao desenvolvimento de várias complicações crónicas da DM tais como a retinopatia e a neuropatia (Li *et al.*, 2011).

Foram também efetuados alguns estudos, nomeadamente estudos *in vivo*, usando como modelo animal o rato, com extratos de *Ecklonia cava* ricos em polifenóis. O objetivo destes estudos era observar o efeito da ingestão destes extratos nos níveis de glucose no caso da DM tipo I. Observou-se uma redução muito significativa dos níveis de glucose no plasma, o que permite sugerir que a mudança de hábitos alimentares dos pacientes

com DM tipo I, com inclusão de alimentos ricos em florotaninos, pode ajudar a controlar os níveis de glucose (Thomas e Kim, 2011).

Também têm vindo a ser isoladas de determinadas espécies de algas verdes compostos fenólicos com ação antidiabética. O hidroxiisoavrainvileol (Figura 18A), encontrado numa espécie tropical de algas verdes, *Avrainvillea nigricana*, e, mais tarde isolado também de extratos de algas vermelhas da espécie *Polysiphonia urceolata*, apresenta-se como um promissor inibidor da proteína fosfatase de tirosina 1B (PTP1B, do inglês *protein tyrosine phosphatase 1B*) (Gamal, 2010). Outras duas moléculas, derivadas do ácido vanílico (Figura 18B e C) e isoladas de uma espécie de macroalga verde (*Cladophora socialis*) comprovaram igualmente possuir ação inibitória da PTP1B (Gamal, 2010).

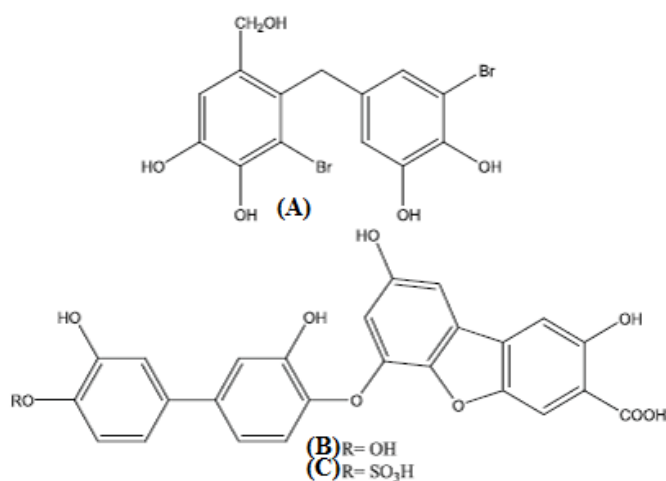


Figura 17 – Estrutura química de: (A) – hidroxiisoavrainvileol; (B) e (C) - derivadas do ácido vanílico (Adaptado de Gamal, 2010).

Em pacientes com DM tipo II ocorre, normalmente, uma resistência à ação das hormonas insulina e leptina, provavelmente devido a uma diminuição da sinalização dos

respetivos recetores. A PTP1B é um regulador negativo dos processos de sinalização, quer da insulina, quer da leptina. Desta forma, os inibidores da PTP1B podem diminuir a resistência à ação destas duas hormonas, o que se traduz num benefício para o tratamento da DM tipo II (Zhang e Lee, 2003).

III. Conclusões

As macroalgas marinhas são ricas numa grande variedade de compostos fenólicos com propriedades antioxidantes. Alguns destes compostos fenólicos, como os florotaninos, encontram-se exclusivamente em determinadas espécies de algas sendo mais abundantes nas macroalgas castanhas. Estes compostos apresentam estruturas químicas diversas e a grande maioria tem revelado possuir outras atividades biológicas interessantes. Assim, atualmente existe um enorme interesse no estudo das macroalgas, com vista a explorar todo o seu potencial em termos nutricionais, cosméticos e/ou farmacêuticos.

Da experiência já adquirida sabe-se que muitas das vezes moléculas que até apresentam ações interessantes *in vitro*, sofrem processos de metabolização e apresentam problemas de absorção que não lhes permitem alcançar concentrações satisfatórias *in vivo*. Os diversos estudos já efetuados permitiram isolar um grande número de compostos fenólicos, com propriedades antioxidantes comprovadas e bem documentadas e que para além de apresentam atividades biológicas muito interessantes e variadas (antineoplásicos, antibacterianos, antivirais, anti-hipertensores, anti-diabéticos, anti-alérgicos) apresentam ainda a vantagem de serem praticamente isentas de efeitos secundários.

No entanto, muitos dos compostos fenólicos isolados e estudados até à data necessitam ainda de ser submetidos a mais ensaios, quer em modelos animais, quer mesmo em ensaios clínicos de forma a poderem vir a ser comercializados. De facto, muitos dos estudos de biodisponibilidade de polifenóis têm sido efetuados recorrendo a modelos animais, pelo que é importante avançar com estudos em seres humanos nesta área para acautelar possíveis variações inter-espécies.

A investigação nesta área tem vindo a revelar-se muito promissora, na medida em que à data existem 23 produtos marinhos naturais em diferentes fases de desenvolvimento pré-comercialização e 6 fármacos comercializados e aprovados pela Administração

Federal de Alimentos e Medicamentos (FDA, do inglês *Food and Drug Administration*) e pela Agência Europeia do Medicamento, (EMA, do inglês *European Medicines Agency*): citarabina (Ara-C®), Vidarabina (Vira-A®), Ziconotide (Prialt®), Eribulin Mesilato (Halaven®), Ácidos Gordos Omega3 (Lovaza®), Brentuzimab vedotin (Adcetris®), trabectedina (Yondelis®).

Se é verdade que a nível da produção de novos medicamentos ainda se exige o aprofundamento da investigação, de forma a que muitos dos compostos fenólicos em estudo possam alcançar a aprovação da FDA e da EMA, ao nível da cosmética já se encontram no mercado vários produtos de marcas altamente conceituadas, tais como a Vichy®, Uriage® e Roc® que incorporam várias moléculas extraídas de macroalgas e/ou extratos de algas.

Também ao nível da indústria alimentar os compostos fenólicos extraídos de macroalgas marinhas têm sido cada vez mais usados principalmente pelas suas propriedades antioxidantes, que permitem preservar os alimentos por maiores períodos de tempo, e em simultâneo contribuem para a promoção da saúde dos consumidores.

IV. Bibliografia

- [1] Aguilera-Morales, M. *et al.* (2005). Chemical composition and microbiological assays of marine algae *Enteromorpha* spp. as a potencial food source. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, pp. 79-88.
- [2] Ahmadi, A. *et al.* (2015). Antiviral Potential of Algae Polysaccharides Isolated from Marine Sources: A Review. *BioMed Research International*, pp. 1-11.
- [3] Amorim-Carrilho, K., Lage-Yusty, M. A. e López-Hernández, J. (2014). Variation of bioactive compounds in dried seaweed *Himanthalia elongata* subjected to different culinary processes. *Journal of Food*, 4, pp. 336–339.
- [4] Angelo, P. M. e Jorge, N. (2007). Compostos fenólicos em alimentos. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 66, pp. 1-9.
- [5] Artan, H. *et al.* (2008). Anti-HIV-1 activity of phloroglucinol derivative, 6,6'-bieckol, from *Ecklonia cava*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, pp. 7921–7926.
- [6] Balboa, E. M. *et al.* (2013) *In vitro* antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chemistry*, 138, pp. 1764-1785.
- [7] Barbosa, M. *et al.* (2014). Bioactive Compounds from Macroalgae in the New Millennium: Implications for Neurodegenerative Diseases. *Marine Drugs*, 12, pp. 4934-4972.
- [8] Barreiros, A. L. B., *et al.*, (2006). Estresses oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, 29, pp. 1678-7064.
- [9] Buss, A. D. e Butler, M. S. (2010). Natural Product Chemistry for Drug Discovery. *Biomolecular Sciences*, 18, pp. 3-429.

- [10] Cabral, S. R. I. *et al.* (2011). Produtos naturais de algas marinha e seu potencial antioxidante e antimicrobiano. *Boletim Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, 29 (2), pp. 181-192.
- [11] Chen, J. L. e Gerwick, W. (1994). Isorawsonol and related IMP dehydrogenase inhibitors from the tropical green alga *Avrainvillea rawsonii*. *Journal of Natural Products*, 57, pp. 947-952.
- [12] Cornish, M. L. e Garbary, D. J. (2010). Antioxidants from macroalgae: Potential application in human health and nutrition. *Algae*, 25, pp. 155-171.
- [13] Costa-Lotufo, L. V., *et al.* (2009). Marine Organisms as a Source of New Pharmaceuticals: History and Perspectives. *Química Nova*, 32, pp. 703-716.
- [14] Degáspari, C. H. e Waszczynskyj, N. (2004). Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos antioxidants properties of phenolic compounds. *Visão Acadêmica*, 1, pp. 33-40.
- [15] Donia, M. e Hamann, M. T. (2003). Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents. *Lancet Infect Dis*, 3, pp. 338-48.
- [16] Farvin, S. e Charlotte, J. (2013). Phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chemistry*, 2, pp. 1670-1681.
- [17] Ferreira, I. C. F. R. e Abreu, R. M. V. (2007). Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. *Bioanálise*, 2, pp. 32-39.
- [18] Ferreira, M. R. G. (2011). Novas classes terapêuticas para o controle de glicemia na diabetes tipo-2 eficácia clínica e questões de segurança. Universidade Fernando Pessoa (Ed.).

- [19] Fitton, J. H. *et al* (2015). Topical Benefits of Two Fucoidan-Rich Extracts from Marine Macroalgae. *Cosmetics*, 2, pp. 66-81.
- [20] Gamal, A. A. (2010). Biological importance of marine algae. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 18, 1–25.
- [21] Guaratini, T. *et al.* (2007). Stability of cosmetic formulations containing esters of vitamins E and A: chemical and physic aspects. *International Journal of Pharmaceutics*. 327, pp. 12-16.
- [22] Grupo de ácido fenólico [em linha]. Disponível em <<http://www.sigmaaldrich.com/united-kingdom.html>> [Consultado em 10/07/16]
- [23] Halliwell, B. (2006). Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiology*, 141, pp. 312-322.
- [24] Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemistry Society Transactions*, 35, pp. 1147-1150.
- [25] Hallmann, A. (2007). Algal transgenics and biotechnology. *Transgenic Plant Journal*, 1, pp. 81-98.
- [26] Holst, J. J. e Gromada, J. (2004). Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 287, pp. 199–206.
- [27] Hwang, H. *et al.*, (2006). Photochemoprevention of UVB-induced skin carcinogenesis in SKH-1 mice by brown algae polyphenols. *Int. J. Cancer*: 119, pp. 2742–2749.
- [28] Irish Seaweed research group [em linha]. Disponível em <<http://www.seaweed.ie>> [Consultado em 10/07/16].

- [29] Jung, H. A. *et al.* (2008). Inhibitory activities of extracts from several kinds of seaweeds and phlorotannins from the brown alga *Ecklonia stolonifera* on glucose-mediated protein damage and rat lens aldose reductase. *Fisheries Science*, 74, pp. 1363-1365.
- [30] Kang, H. S. *et al.* (2004). Tyrosinase inhibitors isolated from the edible brown alga *Ecklonia stolonifera*. *Archives of Pharmacal Research*, 12, pp. 1226-1232.
- [31] Karadeniz, F. *et al.* (2014). Anti-HIV-1 activity of phlorotannin derivative 8,4'''-dieckol from Korean brown alga *Ecklonia cava*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 7, pp. 1151-1158.
- [32] Kong, C. S. *et al.* (2009). Induction of apoptosis by phloroglucinol derivative from *Ecklonia Cava* in MCF-7 human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 47, pp. 1653-1658.
- [33] Lanosol [em linha]. Disponível em <www.chemspider.com> [Consultado em 10/07/16]
- [34] Le, Q. T. *et al.* (2009). Inhibitory effects of polyphenols isolated from marine alga *Ecklonia cava* on histamine release. *Process Biochemistry*, 44, pp. 168-176.
- [35] Lee, S. H. e Jeon, Y. J. (2013). Anti-diabetic effects of brown algae derived phlorotannins marine polyphenols through diverse mechanisms. *Fitoterapia*, 86, 129-136.
- [36] Li, Y. X. *et al.* (2011). Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. *Process Biochemistry*, 46, pp. 2219-2224.
- [37] Liu, C. *et al.* (2008). Structural characterisation and antimutagenic activity of a novel polysaccharide isolated from *Sepiella maindroni* ink. *Food Chemistry*, 110, pp. 807-813.

- [38] Machu, L. *et al.* (2015). Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Algal Food Products. *Molecules*, 20, pp. 1118-1133.
- [39] Munir, N. *et al.* (2013). Algae: A potent antioxidant source. *Sky Journal of Microbiology*, 3, pp. 22-31.
- [40] Murphy, C. *et al.* (2014). The potential of seaweed as a source of drugs for use in cancer chemotherapy. *Journal of Applied Phycology*, 26 (5), pp. 2211-2264.
- [41] Nagayama, K. *et al.* (2002). Bactericidal activity of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50, pp. 889–893.
- [42] Ogunmefun, O. T. *et al.* (2015). Inhibitory Effect of *Phragmanthera Incana* (Schum.) Harvested from Cocoa (*Theobroma Cacao*) and Kolanut (*Cola Nitida*) Trees on Fe²⁺ induced Lipid Oxidative Stress in Some Rat Tissues - *In Vitro*. *International Journal of Biomedical Science*, 1, pp. 16-22.
- [43] Pereira, L. (2004). As Algas Marinhas e Respectivas Utilidades. Departamento de Botânica Universidade de Coimbra (Ed.).
- [44] Pereira, L. (2009). Guia ilustrativa das macroalgas: conhecer algumas espécies da flora portuguesa. In Universidade de Coimbra (Ed.).
- [45] Pereira, L. (2015). Chapter 6 - Seaweed Flora of the European North Atlantic and Mediterranean. In Se-Kwon Kim (Ed.). *Handbook of Marine Biotechnology*, Part B. Springer. pp. 188-190.
- [46] Pereira, L. (2015). Seaweed Flora of the European North Atlantic and Mediterranean. In Springer (Ed.). *Handbook of marine biotechnology*. Part A, pp. 65-141.
- [47] Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2, pp. 219–236.

- [48] Shin, T. *et al.* (2014) Antioxidant marine algae phlorotannins and radioprotection: A review of experimental evidence, *Acta Histochemica*, 116, pp. 669-674.
- [49] Sugiura, Y. *et al.* (2006). Isolation of a new anti-allergic phlorotannin, phlorofucofuroeckol-B, from an edible brown alga, *Eisenia arborea*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70, pp. 2807–2811.
- [50] Sugiura, Y. *et al.* (2008). Anti-allergic effects of the brown alga *Eisenia arborea* on Brown Norway rats. *Fisheries Science*, 74, pp. 180–186.
- [51] Sweeney, T. *et al.* (2016). Effects of *Ascophyllum nodosum* supplementation on *Campylobacter jejuni* colonisation, performance and gut health following an experimental challenge in 10 day old chicks. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*.
- [52] Tan, D. X. *et al.* (2002). Chemical and Physical Properties and Potential Mechanisms: Melatonin as a Broad Spectrum Antioxidant and Free Radical Scavenger. *Medicinal Chemistry*, 2, pp. 181-197.
- [53] Tapiera, H. *et al.* (2004). The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2, pp. 100-110.
- [54] Teas, J. e M. R. Irhimeh, M. R. (2011). Dietary algae and HIV/AIDS: proof of concept clinical data. *J Appl Phycol*, 24, pp. 575-582.
- [55] Thomas, N. V. e Kim, S. K. (2011). Potential pharmacological applications of polyphenolic derivatives from marine brown algae. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32, pp. 325-335.
- [56] Thomas, N. V. e Kim, S. K. (2013). Beneficial Effects of Marine Algal Compounds in Cosmeceuticals. *Marine Drugs*, 11, pp. 146-164.

- [57] Thring, S. T., Hili, P. e Naughton, D. P. (2009). Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BioMed Central*, 27, pp. 1-11.
- [58] Vidotti, E. C. e Rollemberg, M. C. E. (2004). Algas: Da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. *Quimica Nova*, 27, pp. 139-145.
- [59] Vo, T. S. *et al.* (2012). Marine algae as a potential pharmaceutical source for anti-allergic therapeutics. *Process Biochemistry*, 47, pp. 386–394.
- [60] Wall, M. E. *et al.* (1989). Plant antimutagenic agents, 7. Structure and antimutagenic properties of cymobarbatol and 4-isocymobarbatol new cymopols from green alga (*Cymopolza barbata*). *Journal of Natural Products*, 52 (5), pp. 1092-1099.
- [61] WHO, HIV [em Linha]. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/>> [Consultado em 13/07/16].
- [62] WHO, DCV. [em linha]. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>> [Consultado em 30/06/16]
- [63] WHO, DCV [em Linha]. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>> [Consultado em 13/07/16].
- [64] WHO, DCV [em Linha]. <http://www.who.int/cardiovascular_diseases/prevention_control/en/> [Consultado em 13/07/16].
- [65] WHO, DM [em Linha]. Disponível em <<http://www.who.int/entity/diabetes/global-report/en/index.html>> [Consultado em 07/07/16].
- [66] WHO, DM [em Linha]. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>> [Consultado em 13/07/16].

[67] Zhang, Z. Y e Lee S. Y. (2003). PTP1B inhibitors as potential therapeutics in the treatment of type 2 diabetes and obesity. *Expert Opin Investig Drugs*, 12, pp. 223-233.